УДК 576.893.192.1:598.6

ИЗМЕНЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА В МЫШЕЧНОЙ И ПЕЧЕНОЧНОЙ ТКАНЯХ БРОЙЛЕРНЫХ ЦЫПЛЯТ ПРИ КОКЦИДИОЗЕ (COCCIDIDA)

М. А. Мусаев, Я. Я. Елчиев

Институт зоологии АН АзССР, Баку

При экспериментальном заражении бройлеров *E. tenella* количество общих аминокислот в тканях мышц увеличивается, а содержание связанных аминокислот, входящих в состав белков мышечной ткани, уменьшается. В печени птиц количество аланина увеличивается, гистидина и аргинина уменьшается. Нарушение нормального соотношения аминокислот в мышцах и в печени является показателем биохимических изменений в организме самих птиц, с одной стороны, и снижения пищевых качеств этих продуктов — с другой.

Ранее нами и другими исследователями были выявлены определенные количественные сдвиги в содержании свободных аминокислот сыворотки крови и ткани мышц у домашних птиц различных возрастных групп, экспериментально зараженных некоторыми видами кокцидий (Халиков, 1969; Елчиев, 1971а, 1971б, 1973, 1976; Larbier, Yvore, 1971; Мачинский, Орехов, 1971; Мусаев, Елчиев, 1972).

В данной работе мы задались целью изучить суммарное содержание свободных аминокислот и аминокислот, входящих в состав белков ткани мышц и печени, а также связанных аминокислот белков мышечной ткани.

материал и методика

Суточных цыплят породы белый плимутрок выращивали в лаборатории в стерильных по кокцидиозу условиях до 7-недельного возраста. Затем цыплят разбили на контрольные и опытные группы (по 10 голов) и заражали чистой культурой *Eimeria tenella* в дозе 150 тыс. ооцист на 1 птицу. Обе группы получали стандартный комбикорм для бройлерных цыплят.

На 5-й день после заражения у опытных цыплят появились клинические признаки кокцидиоза с сильным кровавым поносом. В конце 5-х суток из зараженных птиц пало 3. В этот же день контрольные и опытные цыплята были забиты для биохимических исследований. С максимальной быстротой извлекали бедренные мышцы и печень, гомогенизировали их в холоде.

Для выявления общего состава аминокислот определенное количество тканевых гомогенатов помещали в пробирку, добавляли 6 н. HCl в 200-кратном объеме к субстрату. Пробирку запаивали.

При определении количества связанных аминокислот (входящих в состав белков мышечной ткани) из тканевых гомогенатов белки осаждали 12%-ной трихлоруксусной кислотой. Пробы центрифугировали, на белковый осадок добавляли охлажденную до 0° окислительную смесь, состоящую из перекиси водорода и муравьиной кислоты (1:99), оставляли на ночь. Окислительную смесь упаривали на ротационном испарителе под вакуумом. Затем к образцу добавляли 6 н. HCl, пробирку запаивали. Гидролиз проводили при температуре 110° в течение 70 ч.

С целью точного определения количества метионина и цистина проводили предварительное окисление белков, так как без окисления при гидролизе белков эти аминокислоты полностью не выходят из колонки или же дают асимметрические пики. Даже при предварительном окислении белков с их последующим гидролизом наблюдаются частичная потеря аспарагиновой кислоты и почти полная потеря тирозина. Поэтому в пробах, подвергнутых окислению, определяли лишь количество метионина в виде метионин-сульфона. Для определения остальных связанных аминокислот мышечной ткани готовили параллельные пробы без предварительного окисления белков. Для расчета цистеиновой кислоты использовали константную аспарагиновую кислоту.

После вскрытия ампул содержимое их выпаривали на ротационном испарителе под вакуумом, сухой остаток растворяли в цитрат-натриевом буфере (рН 2.2). Определение аминокислот проводили на чехословацком аминокислотном анализаторе ААА-881. Полученные данные обрабатывали биометрически и выражали в микромолях на 1 г свежей ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Заражение цыплят кокцидиями влияет на состав аминокислот в тканях мышц (табл. 1). У зараженных цыплят в тканях мышц содержание лизина, аргинина, серина, глутаминовой кислоты, аланина, валина, метионина, лейцинов и фенилаланина достоверно увеличивается. Особенно возрастает содержание глутаминовой кислоты (11.71 мкмоль), затем увеличивается содержание аргинина — на 8.79 мкмоль, лейцина — на 8.68, аланина — на 7.82 и лизина — на 7.68 мкмоль. Увеличение содержания указанных аминокислот способствует нарастанию общего количества аминокислот в мышцах зараженных цыплят на 79.65 мкмоль по сравнению с этими показателями у контрольных цыплят. Изменение содержания других аминокислот, входящих в состав мышечной ткани, статистически недостоверно, но все они имеют склонность к возрастанию содержания.

Как известно, наличие в составе белков в достаточном количестве незаменимых аминокислот является показателем биологической полноценности их. Определение содержания незаменимых аминокислот белков мышечной ткани показало, что количество их в мышечной ткани зараженных птиц увеличивается на 48.27 мкмоль (у контрольных — 737.23, у зараженных птиц — 785.50 мкмоль). Возрастает также содержание заменимых аминокислот (у контрольных — 735.62, у зараженных — 767 мкмоль). Попытались выявить, является ли увеличение содержания аминокислот как незаменимых, так и заменимых следствием изменения в связанных аминокислотах, входящих в состав белков мышечной ткани у зараженных птиц, или изменения общего состава аминокислот, в том числе и незаменимых аминокислот, происходит лишь за счет свободных аминокислот. Имеются сообщения о том, что при кокцидиозах птиц, вызванных Eimeria tenella и E. acervulina, содержание свободных аминокислот в ткани мышц увеличивается (Халиков, 1969; Larbier, Yvore, 1971).

Сумма всех связанных аминокислот белков мышечной ткани у зараженных цыплят уменьшается на 25.61 мкмоль по сравнению с показателями контрольных цыплят (табл. 2). Следовательно, в результате инвазии кокцидиями снижается содержание белков мышечной ткани, показателем которого является уменьшение количества связанных аминокислот, входящих в их состав. Поэтому можно полагать, что причиной увеличения общего содержания аминокислот (табл. 1), в том числе и незаменимых аминокислот, у зараженных цыплят является увеличение количества свободных, а не связанных аминокислот. Сумма связанных аминокислот белков мышечной ткани у зараженных цыплят уменьшается (табл. 2). Однако достоверное изменение количества отдельных аминокислот установить не удалось. Весьма вероятно, что заражение птиц этого возраста

Таблица 1 Состав аминокислот в мышечной ткани зараженных птиц (мкмоль/г свежей ткани)

Таблица 2 Содержание связанных аминокислот белков мышечной ткани зараженных птиц (мкмоль/г свежей ткани)

ткани)			(MICHOVIB) I CHESTICAL TRUTH)			
Амино- кислота	Контрольные	Зараженные	Амино- кислота	Контрольные	Зараженные	
Лизин	117.53 ±1.75	125.21 ± 0.74 P < 0.01	Лизин	111.03 ± 2.24	$\begin{vmatrix} 108.41 \pm 2.71 \\ P < 0.5 \end{vmatrix}$	
Гистидин	37.51 ± 1.89	38.94 ± 0.91 P < 0.5	Гистидин	32.51 ± 0.88	$\begin{array}{c c} 34.12 \pm 0.52 \\ P < 0.5 \end{array}$	
Аргинин	86.02 ± 1.55	94.81 ± 0.41 P < 0.01	Аргинин	81.00 ± 2.25	$\begin{array}{c c} 79.97 \pm 2.30 \\ P < 0.5 \end{array}$	
Аспарагино- вая кислота	141.03 ±1.15	144.01 ± 1.68 P < 0.2	Аспарагино- вая кислота	$132.53 \pm\! 0.72$	$\begin{array}{c c} 128.12 \pm 2.66 \\ P < 0.2 \end{array}$	
Треонин	84.10±1.06	88.10 ± 1.48 P < 0.1	Треонин	78.80 ± 1.13	77.72 ± 0.91 P > 0.5	
Серин	85.01 ± 0.65	90.91 ± 1.01 P < 0.01	Серин	77.80 ± 1.21	77.20 ± 0.89	
Глутамино- вая кислота	204.55 ± 1.80	216.26 ± 0.87 P < 0.01	Глутамино- вая кислота	185.55 ± 4.30	$\begin{array}{c c} P > \overline{0.5} \\ 176.97 \pm 2.23 \\ P < \overline{0.2} \end{array}$	
ban khenora		1 < 0.01	Пролин	69.27 ± 3.21	64.80 ± 1.23	
Пролин	73.02 ± 0.98	72.44 ± 4.37 P > 0.5	Глицин	109.03 + 2.05	$\begin{array}{c c} P < 0.5 \\ 108.82 \pm 2.06 \end{array}$	
Глицин	114.03 ± 2.63	117.58 ± 2.15 P < 0.5	Аланин	$-$ 114.78 ± 2.29	P > 0.5 112.05 +2.39	
Аланин	$ 117.98\pm0.95 $	125.80 ± 1.56	Валин	80.77+0.90	$P < 0.5 \\ 81.55 + 1.23$	
Валии	84.02 ± 0.43	P < 0.01 86.76 ± 0.77		_	P > 0.5 33.22 ± 0.51	
Метионин	3 3.02±1.33	$P < 0.05$ 36.84 ± 0.29	Метионин	33.17 ± 1.73	P > 0.5	
Изолейцин	75.52 ± 0.66	$ m P < 0.01 \ 79.49 \pm 1.42$	Изолейцин	71.77 ± 0.85	70.45 ± 0.68 $P < 0.5$	
Лейцин	123.70 ± 0.50	$ m P < 0.05 \ 132.45 \pm 1.29$	Лейцин	120.36 ± 0.27	119.55 ± 1.43 P > 0.5	
Тирозин	45.58+0.96	$P < 0.001$ 48.06 ± 0.83	Тирозин	41.74 ± 0.74	$\begin{array}{c c} 41.11 \pm 0.23 \\ P < 0.5 \end{array}$	
Фенилала-	50.16 ± 1.14	$P < 0.1$ 54.84 ± 1.09	Фенилала- нин	48.26 ± 1.09	$\begin{array}{c} 49.06 \pm 1.52 \\ P > 0.5 \end{array}$	
нин		P < 0.05	Цистеиновая кислота	16.50 ± 0.75	16.16 ± 0.45 P > 0.5	
Bcero	1472.85	1552.50				
l			Bcero	1404.89	1379.28	

кокцидиями не вызывает качественного изменения в составе аминокислот белков или же эти изменения так незначительны, что не регистрируются аминокислотным анализатором. Этот вопрос является предметом специальных исследований.

Данные по изучению состава аминокислот в ткани печени свидетельствуют о том, что в печени зараженных птиц количество гистидина и аргинина уменьшается, а аланина увеличивается (табл. 3). Изменяется также соотношение заменимых и незаменимых аминокислот. Количество последних уменьшается на 15.73 мкмоль по сравнению с показателями у контрольных цыплят. На основании приведенных данных можно полагать, что нарушение обмена белков не ограничивается только мышечной тканью, но и отражается также на печеночной ткани, нарушая ее нормальную функцию. Нарушение в обмене белков в печени, в свою счередь, влияет на изменение соотношения аминокислот, уменьшая содержание таких незаменимых аминокислот, как гистидин и аргинин, снижая пищевые качества этой ткани.

Таким образом, можно заключить, что заражение бройлерных цыплят кокцидиями, кроме изменения содержания свободных аминокислот в крови (Елчиев, 1971а, 1971б, 1973, 1976; Мусаев, Елчиев, 1972), в мыш-цах (Халиков, 1969; Larbier, Yvore, 1971), вызывает также изменение

Таблица 3 Состав аминокислот в ткани печени зараженных птиц (мкмоль/г свежей ткани)

Аминокислота	Контрольные	Зараженные	Аминокислота	Контрольные	Зараженные
Лизин	98.82 ± 2.03	101.51 ±1.07	Аланин	108.01 ±4.60	125.81 ± 2.55
Гистидин	35.88 ± 1.28	$\begin{array}{ c c c } P < 0.5 \\ 30.20 \pm 2.08 \end{array}$	Валин	94.32 ± 7.57	$P < 0.02 \\ 93.91 \pm 2.24$
Аргинин	106.59 ± 3.82	$ m P < 0.05 86.51 \pm 2.51$	Метионин	35.00 ± 2.22	P > 0.5 33.70 ± 1.63
Аспарагиновая	128.30 ± 4.52	$\begin{array}{c c} P < 0.01 \\ 133.87 \pm 3.81 \end{array}$	Изолейцин	72.57 ± 4.65	P > 0.5 72.46 ± 3.07
кислота Треонин	84.79 ± 3.47	$P < 0.5 \\ 83.41 \pm 2.91$	Лейцин	133.01 ± 2.73	P > 0.5 136.71 ± 4.71
Серин	100.52 ± 6.76	P > 0.6 97.41 ± 5.57	Тирозин	42.32 + 2.16	P > 0.5 44.12+1.83
Глутаминовая	169.75 ± 6.93	P > 0.5 161.02 +3.21	Фенилаланин	57.81 + 3.11	P > 0.5 62.80 +2.51
кислота Пролин	78.82 ± 3.46	$P < 0.5 \\ 79.15 + 4.53$			P < 0.5
Глицин	$\begin{vmatrix} -128.51 + 5.78 \end{vmatrix}$	P > 0.5 129.46+2.33			
		P > 0.5	Bcero	1474.87	1472.05

общих аминокислот в мышцах и печени, сумму связанных аминокислот, входящих в состав мышечной ткани (наши данные).

Следовательно, патологический процесс, вызванный кокцидиями и продуктами их жизнедеятельности, влияет на весь аминокислотный обмен в организме птиц, по-видимому, через нарушения активности соответствующих ферментов печени и мышц, участвующих в аминокислотном обмене, что влечет за собой дискоординацию, угнетение процессов биосинтеза и обновление белков тканей. В связи с этим аминокислоты, поступающие в мышечную ткань, не используются и как патологические продукты обмена в виде свободных аминокислот накапливаются в мышечной ткани. При этом нарушается нормальное соотношение аминокислот в мышечной и печеночной тканях зараженных птиц, снижается их пищевая ценность.

выводы

- 1. При экспериментальном кокцидиозе (E. tenella) у бройлерных цыплят нарушается обмен аминокислот в мышечной ткани и печени. Общее содержание аминокислот ткани мышц увеличивается, а содержание связанных аминокислот, входящих в состав мышечной ткани, уменьшается.
- 2. В ткани печени зараженных цыплят констатируется увеличение содержания аланина, уменьшение содержания гистидина, аргинина и общего количества незаменимых аминокислот.
- 3. Нарушение нормального соотношения аминокислот в мышечной и печеночной тканях является показателями биохимических изменений в организме самой птицы и снижения пищевых качеств продуктов птицеводства.
- 4. Исследование состава аминокислот в мышечной ткани можно использовать в качестве теста для определения биологической ценности мяса при кокцидиозе.
- 5. Данные по составу аминокислот у контрольных птиц могут служить исходным материалом при составлении кормовых рационов для бройлеров различных возрастов.

Литература

Елчиев Я.Я. 1971а. Свободные аминокислоты сыворотки крови цыплят при экспериментальном кокцидиозе (Е. mitis). — Изв. АН АзССР. Серия биол. наук, 1:107—110.

Елчиев Я. Я. 1971б. Белки и свободные аминокислоты сыворотки крови пыплят при экспериментальных кокцидиозах (E. tenella, E. mitis). — Матер. I съезда ВОПР. Баку: 210—211.

Елчиев Я. Я. 1973. Изменение содержания свободных аминокислот сыворотки крови цыплят при экспериментальном кокцидиозе (E. tenella). — Изв.

АН АзССР. Серия биол. наук, 4:93—97. Елчиев Я.Я. 1976. Свободные аминокислоты сыворотки крови цыплят при однократном и трехкратном заражении большой дозой ооцист E. tenella. — Матер. II съезда ВОПР, ч. 3. Киев: 39—40. Мачинский А. П., Орехов В. С. 1971. Динамика свободных аминокислот

в цельной крови при кокцидиозах цыплят. — Матер. І съезда ВОПР. Баку:

М у с а е в М. А., Е л ч и е в Я. Я. 1972. Свободные аминокислоты сыворотки крови цыплят при экспериментальных кокцидиозах. — В кн.: Паразиты, паразитозы

цыплят при экспериментальных кокцидиозах. — В кн.: Паразиты, паразитозы и пути их ликвидации. Вып. І. Киев: 89—97.

Халиков Ф. Р. 1969. Биохимические показатели крови мышечной ткани при цекальном кокцидиозе кур. Автореф. канд. дис. М: 3—18.

Larbier M., Yvore P. 1971. Influence de la coccidiose duodenale a Eimeria acevulina sur la teneur en amines libres du muscle chez le Poulet. — C. r. Acad. Sci., 273 (14): 1228—1230.

CHANGES OF AMINOACID CONTENTS IN MUSCULAR AND LIVER TISSUES OF BROILER CHICKS AT COCCIDIOSIS (COCCIDIIDA)

M. A. Museav, Ja. Ja. Elchiev

SUMMARY

Broiler 7-week old chicks were infected with E. tenella (150 000 oocysts). The contents of aminoacids of muscular tissues of femur and liver as well as combined aminoacids of femoral muscles were investigated. It has been established that the total amount of aminoacids of muscular tissues increases on account of free aminoacids while the contents of combined aminoacids decreases. In the liver of infected chicks there was observed an increase of alanine and a decrease of histidine, arginine and of total quantity of nonsubstituted aminoacids.

Coccidial infection causes pathological changes in the organism of birds thus redu-

cing their food value.